

Atividade nematocida de extratos de sementes de espécies de *Crotalaria* sobre *Meloidogyne javanica*

Cristiane Gonçalves Gardiano¹, Rosangela Dallemole-Giaretta¹, Everaldo Antônio Lopes¹,
Ronaldo João Falcão Zooca¹, Silamar Ferraz¹ e Leandro Grassi de Freitas¹

Resumo – O objetivo do trabalho foi avaliar a atividade nematocida de extratos aquosos de sementes de *Crotalaria breviflora*, *C. juncea*, *C. mucronata* e *C. spectabilis* sobre *Meloidogyne javanica*, sob condições controladas. Os extratos, preparados a partir da mistura de 20 g de sementes para 200 ml de água destilada, foram aplicados semanalmente durante 60 dias, no volume de 20 ml por vaso de 2 L de capacidade. Na testemunha foi aplicado o mesmo volume de água destilada. A altura de plantas, a massa da parte aérea e o número de ovos por sistema radicular não foram influenciados pela aplicação de nenhum extrato. Por outro lado, os extratos de *C. breviflora* e *C. spectabilis* aumentaram em 38,1 e 56% a massa das raízes, respectivamente, em comparação com a testemunha infectada com o nematóide. O número de galhas foi reduzido apenas pela aplicação de *C. mucronata*, na proporção de 33%.

Palavras-chave: plantas antagonistas, nematóide-das-galhas, controle de nematóides.

Nematicidal activity of *Crotalaria* seed extracts on *Meloidogyne javanica*

Abstract – The aim of this work was to evaluate the nematicidal effect of aqueous seed extracts of *Crotalaria breviflora*, *C. juncea*, *C. mucronata* and *C. spectabilis* on *Meloidogyne javanica* under controlled conditions. The extracts, prepared by mixing 20 g of seeds to 200 ml of distilled water, were applied weekly during 60 days, at 20 ml per 2-L pot. The same volume of distilled water was applied in the control. Plant height, aboveground mass, and the number of eggs per root were not affected by the extracts. On the other hand, the mass of the tomato roots was increased by 38.1 and 56% after application of the extracts of *C. breviflora* and *C. spectabilis*, respectively, in comparison to the control. The number of galls was reduced only by the application of *C. mucronata* seed extracts (33%).

Keywords: antagonistic plants, root-knot nematode, nematode control.

INTRODUÇÃO

Plantas do gênero *Crotalaria* são muito empregadas em programas de adubação verde, em função de sua grande produção de biomassa verde e capacidade de fixação de nitrogênio atmosférico (Wang et al., 2002). As espécies mais difundidas no Brasil são *C. juncea* L., *C. spectabilis* Roth e *C. paulina* Schrank (Ferraz & Valle, 1997). Além disso, podem ser utilizadas no controle de várias espécies de fitonematóides, com destaque para o nematóide das galhas (*Meloidogyne* spp.) (Ferraz & Freitas, 2004).

O manejo de nematóides com crotalárias é geralmente feito em sistemas de rotação de culturas ou em plantio de cobertura, com posterior incorporação dos resíduos ao solo (Wang et al., 2002). Em ambos os casos, o principal modo de ação da planta seria sua capacidade de atuar como planta-armadilha, permitindo a penetração dos juvenis em suas raízes, mas, impedindo o seu desenvolvimento até a fase adulta (Silva et al., 1989). Além desse mecanismo, a incorporação ao solo de partes da planta pode ser eficiente no manejo de *Meloidogyne* spp., a exemplo de sua biomassa verde (Mian & Rodríguez-Kábana, 1982) e suas sementes (Rich & Rahi, 1995).

As folhas e, principalmente, as sementes de *Crotalaria* apresentam em sua composição o alcalóide pirrolizidínico denominado ‘monocrotalina’ (Johnson et al., 1985). Esse composto é altamente tóxico a vertebrados e apresenta potencial nematocida (Wang et al., 2002). Extratos preparados a partir de folhas de *C. juncea* foram letais para *Rotylenchulus reniformis* Linford & Oliveira (Wang, 2000), *Radopholus similis* (Cobb) Thorne (Jasy & Koshy, 1994) e *M. exigua*

Recebido em 10 de fevereiro de 2009 e aceito para publicação em 13 de fevereiro de 2010.

¹ Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Fitopatologia, 36570-000, Viçosa (MG), Brasil. E-Mail: cris_gardiano@yahoo.com.br.

Goeldi (Amaral et al., 2002). Logo, possíveis compostos nematicidas presentes nos extratos de *Crotalaria* poderiam ser eficientes no controle do nematóide das galhas se aplicados ao solo. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade nematicida de extratos aquosos de sementes de *C. spectabilis*, *C. mucronata* Desv., *C. juncea* e de *C. breviflora* DC. sobre *M. javanica*, sob condições controladas.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em condições de casa de vegetação, pertencente ao Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Vinte gramas de sementes de *C. spectabilis*, *C. mucronata*, *C. juncea* ou *C. breviflora* foram misturados com 200 ml de água destilada e a mistura foi deixada em repouso por 24 h na geladeira ao abrigo da luz. No dia seguinte, as sementes foram trituradas no liquidificador por aproximadamente 30 segundos. O extrato produzido foi filtrado em camada dupla de gaze e utilizado logo em seguida.

Vasos plásticos de 2 L de capacidade foram cheios com uma mistura de solo:areia 1:1 (v:v), previamente tratada com brometo de metila, na dosagem de 80 cm³/m³ de solo. Uma muda de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill. ‘Santa Clara’) de 21 dias de idade foi transplantada em cada vaso. Em seguida, o solo foi infestado com 5.000 ovos de *M. javanica*, extraídos seguindo o método descrito por Hussey & Barker (1973), modificado por Boneti & Ferraz (1981). No mesmo dia da inoculação foram adicionados ao solo 20mL do extrato aquoso das sementes de espécies de *Crotalaria*. Nas plantas testemunhas foram adicionados 20 mL de água destilada em cada vaso. Os extratos foram aplicados semanalmente por um período de 60 dias.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com oito repetições por tratamento. Ao final do experimento foram avaliados: o número de ovos e de galhas por sistema radicular, os pesos da massa fresca da parte aérea e do sistema radicular e a altura da parte aérea da plantas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas entre si pelo teste de Tukey, a 5 % de probabilidade, com o auxílio do pacote estatístico ‘Statistica’ (Statsoft, 2004).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A altura de plantas e a massa da parte aérea não foram influenciadas pela aplicação de nenhum extrato. Por outro lado, os extratos de *C. breviflora* e *C. spectabilis* aumentaram em 38,1 e 56% a massa das raízes, respectivamente, em comparação com a testemunha infectada com o nematóide. Em relação aos dados referentes ao crescimento da planta, a principal informação esperada nessas condições experimentais trata-se de possíveis efeitos fitotóxicos dos extratos, o que não foi observado (Tabela 1).

O número de galhas de *M. javanica* em raízes de tomateiro foi reduzido apenas pela aplicação de *C. mucronata*, na proporção de 33%, quando comparado com a testemunha (Tabela 1). Por outro lado, os extratos de nenhuma espécie afetaram significativamente a produção de ovos do nematóide (Tabela 1). Isso permitiria a manutenção do nível de inóculo do nematóide no solo semelhante ao da testemunha, não sendo recomendada a adoção desses extratos como forma de manejo do patógeno.

Em experimentos ‘in vitro’, os extratos de *Crotalaria* provocaram imobilização, morte ou inibição da eclosão de juvenis de importantes espécies de fitonematóides, como por exemplo, *R. similis* (Jasy & Koshy, 1994), *R. reniformis* (Wang, 2000), *M. exigua* (Amaral et al., 2002), *M. incognita* (Subramaniyan & Vadivelu, 1990; Jourand et al., 2004) e *Scutellonema bradys* (Garrido et al., 2008). No entanto, as discrepâncias observadas entre os resultados obtidos em laboratório e aqueles conduzidos em casa de vegetação ou no campo não são raras. O principal fator responsável por essas diferenças é a diversidade de condições encontradas no solo em detrimento àquelas observadas no laboratório. Substâncias com potencial nematicida presentes nos extratos podem ser degradadas pela microbiota do solo (Lopes et al., 2005). Salgado & Campos (2003) atribuíram o aumento populacional de *Meloidogyne exigua* Goeldi, após a aplicação do extrato de *Melia azedarach* L. à decomposição dos compostos orgânicos presentes no extrato pela ação de bactérias

nitrificadoras.

Tabela 1. Efeito da aplicação ao solo de extratos de sementes de espécies de *Crotalaria* sobre a altura de tomateiros, massa da parte aérea, massa das raízes, número de galhas e de ovos de *Meloidogyne javanica* nas raízes, aos 60 dias após a infestação do solo

Tratamentos	Altura de plantas (cm)	Massa da parte aérea (g)	Massa das raízes (g)	Número de galhas	Número de ovos
<i>C. breviflora</i>	80,50 ns (-6,5%)	60,32 a (+17,1%)	23,73 a (+38,1%)	501 ab (-10,0%)	569.746 ns (+4,1%)
<i>C. juncea</i>	89,87 (+4,3%)	56,50 ab (+9,7%)	14,54 c (-15,4%)	521 a (-6,5%)	530.155 (-3,1%)
<i>C. mucronata</i>	84,38 (-2,0%)	53,54 ab (+4,0%)	22,38 ab (+30,3%)	373 b (-33,0%)	410.223 (-25,0%)
<i>C. spectabilis</i>	91,25 (+5,9%)	56,33 ab (+9,4%)	26,80 a (+56%)	477 ab (-14,4%)	544.792 (-0,4%)
Testemunha	86,12	51,50 ab	17,18 bc	557 a	547.215

^{ns} Não-significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F. Médias seguidas pela mesma letra nas colunas são iguais pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Valores entre parênteses representam os percentuais de redução ou incremento relativos às variáveis estudadas, em comparação com o tratamento testemunha.

A forma de preparo dos extratos pode ter influenciado a extração de possíveis compostos bioativos. O uso de extratores químicos com alta polaridade, tal qual o etanol, poderia extrair mais ingredientes ativos do que a água (Sukul, 1974). De fato, segundo Amaral et al., (2002) os extratos metanólicos de folhas de *C. juncea* provocaram maior inativação de juvenis de *M. exigua* do que os extratos aquosos. Todavia, o preparo dos extratos aquosos no presente trabalho foi escolhido por sua simplicidade de preparo e baixo custo, considerando que tal tecnologia poderia ser utilizada pelos produtores sem a necessidade de reagentes e equipamentos específicos para extração de substâncias nematicidas. Diante da ausência de resultados mais promissores utilizando água como extrator, a possibilidade de uso de outros extratores, a exemplo do etanol, deve ser investigada em condições controladas e de campo, considerando também a viabilidade econômica do processo de preparo dos extratos.

Possivelmente, o efeito da incorporação de sementes de *Crotalaria* sobre o *Meloidogyne* spp., como observado por Rich & Rahi (1995), seja mais função da baixa relação C/N do material do que propriamente a presença de compostos nematicidas nas sementes (Wang, 2002). Materiais com baixa relação C/N ou alto teor de amônia favorecem a plasmólise dos nematóides ou a proliferação de fungos nematófagos (Rodríguez-Kábana, 1986). Ainda assim, a ação de substâncias presentes nas sementes deve ser nematostática (imobilização do nematóide) e não nematicida (Jourand et al., 2004). Os extratos de *C. mucronata* podem ter agido inibindo a movimentação de juvenis de *M. javanica* no solo, resultando em menor número de galhas. No entanto, uma vez no interior das raízes, o desenvolvimento dos juvenis até a fase adulta não foi afetado e a reprodução das fêmeas foi similar aos demais tratamentos.

Embora no presente trabalho os resultados não tenham sido promissores, diferentes plantas, órgãos vegetais e métodos de preparo de extratos devem ser estudados visando ao aumento da eficiência no controle de nematóides. Além disso, tais pesquisas podem contribuir para a descoberta de possíveis moléculas nematicidas naturais, resultando em produtos comerciais presumidamente menos tóxicos.

CONCLUSÕES

Extratos aquosos de sementes de *C. breviflora*, *C. juncea*, *C. mucronata* e *C. spectabilis* aplicados semanalmente apresentaram pouca ou nenhuma eficiência na redução do número de

galhas e de ovos de *M. javanica* em tomateiros.

REFERÊNCIAS

- AMARAL, D. R.; OLIVEIRA, D.F.; CAMPOS, V.P.; CARVALHO, D.A. Efeito de alguns extratos vegetais na eclosão, mobilidade, mortalidade e patogenicidade de *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Nematologia Brasileira**, v. 26, n. 1, p. 43-48, 2002.
- BONETI, J.I.S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 6 (Suplemento), p. 553 (Resumo), 1981.
- FERRAZ, S.; FREITAS, L.G. Use of antagonistic plants and natural products. In: CHEN, Z., CHEN, S.; DICKSON, D.W. (Eds). **Nematology – Advances and Perspectives. Volume II: Nematode Management and Utilization**. Beijing: Tsinghua University Press; Wallingford: CABI Publishing, 2004, p. 931-978.
- FERRAZ, S.; VALLE, L.A.C. **Controle de fitonematóides por plantas antagonistas**. Viçosa: Editora UFV, 1997. 73 p. (Cadernos Didáticos, 7).
- GARRIDO, M. S.; SOARES, A.C.F.; COIMBRA, J.L.; SOUSA, C.S. Management of crotalaria and pigeon pea for control of yam nematode diseases. **Summa Phytopathologica**, v. 34, p. 222-227, 2008.
- JASY, T.; KOSHY, P.K. Effect of certain leaf extracts and leaves of *Glyricidia maculate* (H. B. & K) Steud. as green manure on *Radopholus similis*. **Indian Journal of Nematology**, v. 22, p. 117-121, 1994.
- JOHNSON, A.E; MOLYNEUX, R.J.; MERRIL, G.B. Chemistry of toxic range plants: variation in pyrrolizidine alkaloid content of *Senecio*, *Amsinckia* and *Crotalaria* species. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 33, n.1, p. 50-55, 1985.
- JOURAND, P.; RAPIOR, S.; FARGETTE, M.; MATEILLE, T. Nematostatic activity of aqueous extracts of West African *Crotalaria* species. **Nematology**, v. 6, n. 5, p. 765-771, 2004.
- MIAN, I.H.; RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. Survey of the nematicidal properties of some organic materials available in Alabama as amendments to soil for control of *Meloidogyne arenaria*. **Nematropica**, v. 12, n. 2, p. 235-246, 1982.
- RICH, J. R.; RAHI, G.S. Suppression of *Meloidogyne javanica* and *M. incognita* on tomato with ground seed of castor, crotalaria, hairy indigo and wheat. **Nematropica**, v. 25, n. 2, p. 159-164, 1995.
- RODRÍGUEZ-KÁBANA, R. Organic and inorganic nitrogen amendments to soil as nematode suppressants. **Journal of Nematology**, v. 18, p. 129-135, 1986.
- SALGADO, S. M. L.; CAMPOS, V.P. Extratos naturais na patogenicidade e reprodução de *Meloidogyne exigua* em cafeeiro e de *Meloidogyne incognita* raça 3 em feijoeiro. **Nematologia Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 41-48, 2003.
- SILVA, G.S.; FERRAZ, S.; SANTOS, J.M. Atração, penetração e desenvolvimento de larvas de *Meloidogyne javanica* em raízes de *Crotalaria* spp. **Nematologia Brasileira**, v. 13, p. 151-163, 1989.
- STATSOFT, Inc. **Statistica for Windows (computer program manual)**. Tulsa, OK: Statsoft Inc. 2004.
- SUBRAMANIYAN, S; VADIVELU, S. Effects of *Crotalaria spectabilis* extracts on *Meloidogyne incognita*. **International Nematology Network Newsletter**, v. 7, n.1, 8-9, 1990.
- SUKUL, N.C.; DAS, P.K.; DE, G.C. Nematicidal action of some edible crops. **Nematologica**, v.

20, p. 187-191, 1974.

WANG, K. H. **Management of *Rotylenchulus reniformis* in Hawaiian pineapple with tropical cover crops**. 2000. Dissertation, University of Hawaii at Manoa, Honolulu, U.S.A.

WANG, K.H.; SIPES, B.S.; SCHMITT, D.P. **Crotalaria as a cover crop for nematode management: a review**. Nematropica, v. 32, n. 1, p. 35-57, 2002.